Gélose TSI

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

HISTORIQUE

Hajna a développé la formulation de cette gélose à trois sucres en ajoutant du saccharose au milieu à deux sucres (lactose et glucose) de Kligler. L'addition de saccharose permet d'accroître la sensibilité du milieu en permettant la détection précoce des coliformes qui, fermentant le lactose lentement, dégradent plus rapidement le saccharose. Le milieu favorise également la différenciation de certaines souches de *Proteus* (lactose-négatif) qui fermentent le saccharose en 24 heures d'incubation.

PRINCIPES

- Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune le rouge de phénol (indicateur pH).
- Pour faciliter la détection des germes qui fermentent uniquement le glucose, la concentration de ce sucre a été abaissée au 1/10ème de celle du lactose ou du saccharose, de telle façon que la faible quantité d'acide produite sur la pente pendant la fermentation s'oxyde rapidement, ce qui entraîne un retour rapide à la coloration rouge ou bien à une réalcalinisation plus prononcée. Par contre, la réaction acide (couleur jaune) est maintenue en profondeur dans le culot du tube.
- Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer au jaune la pente du tube.
- Les microorganismes ne fermentant aucun des trois sucres ne modifient pas la couleur du milieu.
- La production de sulfure d'hydrogène se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.
- La production de gaz (hydrogène, dioxyde de carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit ou bien par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose.

PREPARATION

- Mettre en suspension 60,1 g de milieu déshydraté (BK059) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Incliner les tubes de manière à obtenir un culot de 3 cm de hauteur et une pente oblique.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

NOTA :

Lorsque le milieu n'est pas utilisé dans les 8 jours qui suivent sa préparation, il est recommandé de le régénérer au bain-marie bouillant et de le solidifier à nouveau en bonne position.

MODE D'EMPLOI

- A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemencer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.
- Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées au centre de colonies bien isolées, sinon les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures (capsules desserrées) de manière à favoriser les échanges gazeux.

NOTA :

L'incubation doit être réalisée à (36 ± 2)°C pendant (24 ± 3) h lorsque le protocole décrit dans la norme NF ISO 19250 est mis en œuvre.

LECTURE

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncé. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire.

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

(1) Fermentation de glucose

- culot rouge : glucose non fermenté
- culot jaune : glucose fermenté

(2) Fermentation du lactose et/ou du saccharose

- pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés
- pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

(3) Production de gaz

- apparition de gaz dans le culot.

(4) Formation d'H_2S

- formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

Les réactions typiques obtenues sont présentées dans le tableau suivant :

ESPECES	PENTE	CULOT		H_2S
	Lactose / Saccharose	Glucose	Gaz	
Salmonella Typhi [2]	-	+	-	+
Salmonella Paratyphi *A* [2]	-	+	+	-
Salmonella Choleraesuis [2]	-	+	+	-
Salmonella Pullorum [2]	-	+	+	+
Salmonella Paratyphi *B* [2]	-	+	+	+
Salmonella Typhimurium [2]	-	+	+	+
Salmonella Enteritidis [2]	-	+	+	+
Salmonella Gallinarum [2]	-	+	-	+
Shigella dysenteriae	-	+	-	-
Shigella flexneri	-	+	-	-
Shigella sonnei	-	+	-	-
Shigella boydii	-	+	-	-
Proteus vulgaris	+	+	[+]	+
Proteus mirabilis	-	+	+	+
Proteus morganii	-	+	+	-
Proteus rettgeri	-	+	-	-
Serratia marcescens	-	+	-	-
Enterobacter hafniae	-	+	+	-
Enterobacter aerogenes	+	+	+	-
Enterobacter cloacae	+	+	+	-
Escherichia coli [1]	+	+	+	-
Citrobacter freundii	+	+	+	+
Klebsiella pneumoniae	+	+	+	-
Alcaligenes faecalis	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	-	-	-	-
Yersinia enterocolitica	-	-	-	-

[1] Certaines souches d'*Escherichia coli* ne fermentent le lactose que très tardivement.

[2] Au cas où l'interprétation peut laisser suspecter la présence de salmonelles, il est possible d'effectuer, à partir des cultures sur milieu TSI, la recherche de la ß-galactosidase, de l'uréase et de la lysine-décarboxylase.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 14,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 3,0 g
- Extrait de viande ..... 3,0 g
- Glucose ..... 1,0 g
- Lactose ..... 10,0 g
- Saccharose ..... 10,0 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium ..... 0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal ..... 0,3 g
- Rouge de phénol ..... 24,0 mg
- Agar agar bactériologique ..... 13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre rosée, fluide et homogène.
- Milieu préparé : gélose rouge orangé.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 37°C :

Microorganismes		Croissance	Pente	Culot	H_2S	Gaz
Escherichia coli	ATCC® 25922	bonne, score 2	jaune	jaune	-	+
Citrobacter freundi	CIP 57.32T	bonne, score 2	jaune	jaune	+	+
Proteus vulgaris	ATCC 13315	bonne, score 2	jaune	jaune	[+]	+
Salmonella Enteritidis	CIP 82.97	bonne, score 2	rouge	jaune	+	+
Pseudomonas aeruginosa	CIP 82.118	bonne, score 2	rouge	rouge	-	-

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en tubes non inclinés : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu préparé en tubes inclinés : 8 jours à 2-8°C (à titre indicatif).

PRESENTATION

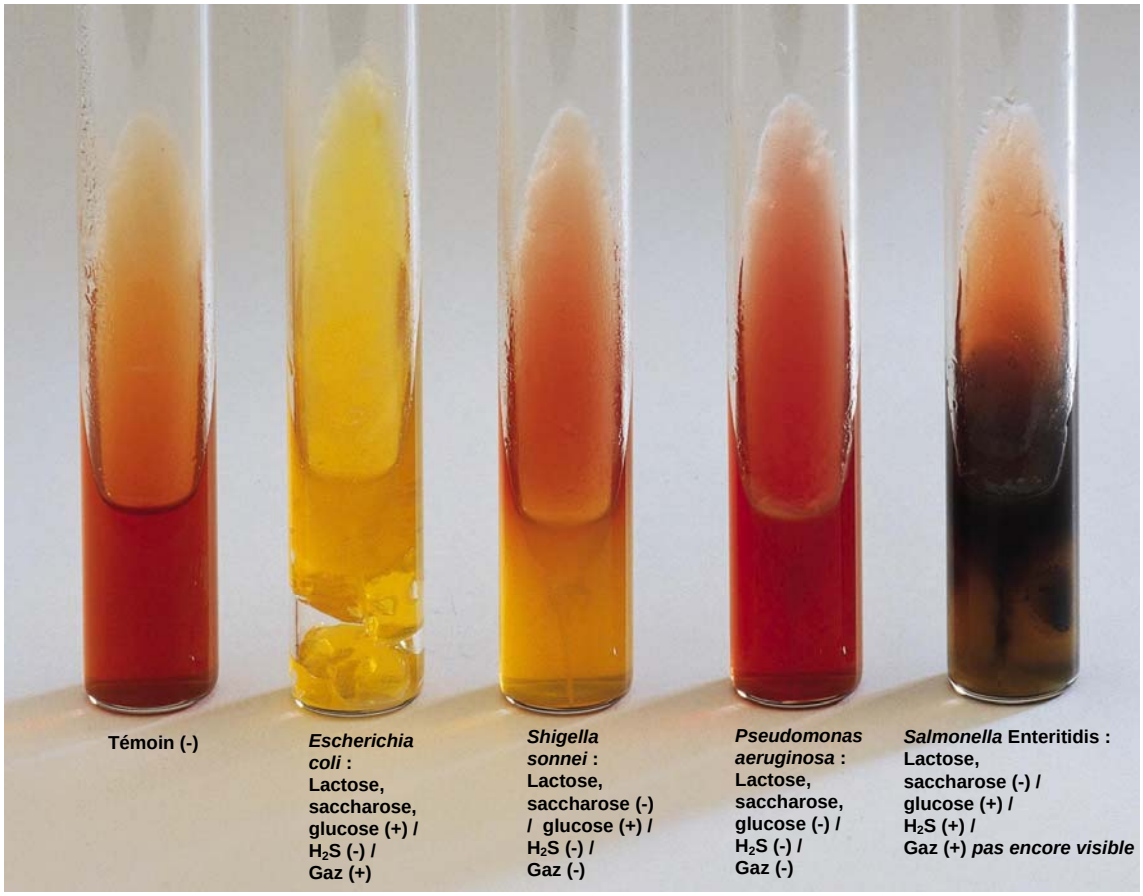
	Code
Milieu déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK059HA

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :

Référence produit : BK059HA

Utilisation : L'identification des entérobactéries.


Témoin (-)
Escherichia coli : Lactose, saccharose, glucose (+) / H_2S (-) / Gaz (+)
Shigella sonnei : Lactose, saccharose (-) / glucose (+) / H_2S (-) / Gaz (-)
Pseudomonas aeruginosa : Lactose, saccharose, glucose (-) / H_2S (-) / Gaz (-)
Salmonella Enteritidis : Lactose, saccharose (-) / glucose (+) / H_2S (+) / Gaz (+) *pas encore visible*

Bactéries diverses / réactions

Gélose TSI
Réf : **BK059HA**
Incubation : 24 heures / 37°C
Caractéristiques : des réactions biochimiques diverses sont visibles. Voir légende ci-dessus.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sulkin, E.S., and Willet, J.C. 1940. A Triple Sugar Ferrous Sulfate Medium for use in Identification of Enteric Organisms. J. Lab. Clin. Med., 25: 649-653.

Hajna, A.A. 1945. Triple Sugar Iron Medium for the Identification of the Intestinal groups of Bacteria. J. Bact. 49: 516-517.

Pharmacopée européenne. Addendum 2000. Contrôle microbiologique des produits non stériles (Recherche de microorganismes spécifiés). Solution et milieux de culture recommandés, 56-61.

ISO 6785 / IDF 93. Mai 2001. Lait et produits laitiers. Recherche de *Salmonella* spp.

United States Pharmacopeia. 26. 2003. Microbial Limit Tests, 2006-2011.

NF EN ISO 21567 (V 08-411). Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 6579 (V 08-013). Mars 2007. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

NF EN ISO 6785 (V 04-031). Avril 2008. Lait et produits laitiers. Recherche de *Salmonella* spp.

NF ISO 19250 (T 90-435). Octobre 2010. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-10-12.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK059/F/2003-06 : 7.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr